

Studies on Functional Effects of Oleuropein and Hydroxytyrosol on Adipogenesis and Lipolysis in 3T3 • L1 Mouse Adipocytes

著者	リアド ドリラ
内容記述	筑波大学博士（理学）博士論文・平成23年11月30日授与(甲5939号)
発行年	2011
URL	http://hdl.handle.net/2241/00140090

氏 名 (本籍)	リアド ドリラ (チュニジア)			
学 位 の 種 類	博 士 (理 学)			
学 位 記 番 号	博 甲 第 5939 号			
学位授与年月日	平成 23 年 11 月 30 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
審 査 研 究 科	生命環境科学研究科			
学 位 論 文 題 目	Studies on Functional Effects of Oleuropein and Hydroxytyrosol on Adipogenesis and Lipolysis in 3T3-L1 Mouse Adipocytes (マウス 3T3-L1 脂肪前駆細胞の分化および脂肪代謝に対するオレウロペインとヒドロキシチロゾールの作用効果に関する研究)			
主 査	筑波大学准教授	理学博士	坂 本 和 一	
副 査	筑波大学教授	理学博士	漆 原 秀 子	
副 査	筑波大学教授	理学博士	林 純 一	
副 査	筑波大学教授	農学博士	宮 崎 均	

論 文 の 内 容 の 要 旨

近年、肥満やメタボリックシンドロームによる高脂血症、高血圧、心臓病、糖尿病など生活習慣病の増加が大きな社会問題となっている。一般に、肥満は脂肪細胞における過剰なトリグリセリドの蓄積により起こるが、脂肪細胞自身の数や肥大化およびホルモン分泌なども深く関与する。この脂肪細胞の分化や機能性は様々な転写因子により制御されている。例えば、PPAR- γ や C/EBP は脂肪細胞の分化の初期に作用し、分化を誘導する。FoxO1 はインシュリンシグナル経路を介して脂肪細胞の分化の促進または抑制に働く。また、SREBP1c は脂肪酸の生合成に関わり、脂肪細胞への脂肪蓄積を誘導する。一般に、脂肪細胞の過剰形成や肥大化には活性酸素が深く関与するが、活性酸素はこれらの転写因子の活性を制御する。

一方、植物由来の生理活性物質いわゆるファイトケミカルには脂肪細胞の脂質代謝や分化、肥大化、ホルモン分泌の改善などに機能するものが知られている。中でもオリーブの葉に含まれるオレウロペインやヒドロキシチロゾールは強い抗酸化作用をもち、肥満を始め糖尿病、癌、動脈硬化などの抑制に働くことが知られている。これまでに、これらの物質が脂質代謝の改善に関わる事実は知られていたが、その詳しい作用の分子メカニズムは不明のままであった。

そこで本研究は、脂肪細胞の分化および脂質代謝に対するオレウロペインとヒドロキシチロゾールの生理作用と作用の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。特に、脂肪細胞の分化や脂肪分解に関わる転写因子やシグナル経路に対するオレウロペインとヒドロキシチロゾールの作用メカニズムを明らかにすることを目的とした。

まず、マウス前駆脂肪細胞 3T3-L1 を DMI 法で刺激して脂肪細胞への分化を誘導し、オレウロペインとヒドロキシチロゾールを添加したところ、濃度に依存して脂肪蓄積が顕著に抑制された。これらの分子を分化誘導後の異なる時期に作用させたところ、初期 (0 - 2 日間) に添加した場合には、後期 (4 - 8 日間) よりも脂肪細胞の分化が強く抑制された。また、オレウロペインとヒドロキシチロゾールにより糖や脂肪酸の取り込み量が減少し、トリグリセリドの合成に必要なグリセロール 3 リン酸脱水素酵素 (GPDH) 活性が著

しく減少した。そこで SREBP1c の転写因子活性を調べたところ、両分子とも SREBP1c の転写因子活性を顕著に低下させた。定量 PCR の結果、オレウロペインとヒドロキシチロゾールの添加により、PPAR- γ や C/EBP α および SREBP-1c や FASN の遺伝子発現も減少した。さらに、両分子は脂肪細胞の細胞周期を乱し、分化初期の細胞増殖を特異的に抑制した。特に、ヒドロキシチロゾールは分化脂肪細胞の脂肪分解を特異的に誘導した。また、種々の Kinase 抑制剤を用いた解析から、ヒドロキシチロゾールは PKA シグナル経路を介して脂質分解酵素 HSL のリン酸化を促し、脂質分解を誘導することが明らかになった。

本研究により、オレウロペインとヒドロキシチロゾールは分化に不可欠な転写因子の発現を抑制し、分化初期の細胞増殖を阻害することにより脂肪細胞の分化を抑制することが明らかになった。また、ヒドロキシチロゾールは、成熟脂肪細胞に作用して脂肪分解を顕著に誘導することが明らかになった。今後、脂肪細胞に対するオレウロペインとヒドロキシチロゾールの作用機序をさらに詳しく知ることにより、肥満や糖尿病の予防・改善に係る応用研究を進展させることが可能になる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

近年、食生活や社会環境の変化と共に、肥満症に関連した生活習慣病の増加が極めて大きな社会問題となりつつあり、肥満解消の基本的な分子メカニズムの解明が急がれている。これまで、オリーブに含まれる機能分子が肥満の抑制に関わることは知られていたが、脂肪細胞の分化や脂質代謝に対する作用機序はほとんど知られていなかった。本研究は、オレウロペインとヒドロキシチロゾールが脂肪前駆細胞の増殖抑制を介して脂肪細胞の初期分化を抑制する事実を明らかにし、さらに、ヒドロキシチロゾールが PKA シグナル経路を通じて脂肪分解酵素を活性化する事実を解明したものである。これにより、これまで未知であった脂肪細胞の分化や脂質代謝に対するオレウロペインとヒドロキシチロゾールの生理作用と作用機序を初めて明らかにすることができた。

これらの発見は、脂肪細胞の分化や機能性の維持に関わる基本的分子機構の解明という学術的な意義があるばかりでなく、肥満症とそれに関連した様々な生活習慣病の予防や改善に向けたファイトケミカルの応用研究を推進するもので、社会的にも極めて重要な意義をもつ研究であると言える。

平成 23 年 9 月 29 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員の出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。